

Mucor 및 Rhizopus속 균류를 이용한 콩알메주 발효의 생화학적 특성

김동호 · 김승호

생명공학 연구소 단백질기능 R.U.

Biochemical Characteristics of Whole Soybean Cereals Fermented with *Mucor* and *Rhizopus* Strains

Dong-Ho Kim and Seung-Ho Kim

Protein Function R.U., Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology

Abstract

Whole soybean cereal was fermented with four fungal strains (*Mucor* and *Rhizopus*) in pilot *meju* fermentation system. The pH range of the fermented soybean cereal was 7.16-8.38, the contents of reducing sugar and amino-nitrogen were 0.54-2.64%, 93-312 mg%, respectively, and that of free fatty acid ranged 0.06-2.00%. The components of the amino acid, organic acid, free sugars and fatty acid showed distinctive patterns among four groups of fermented soybean cereals. Amylase activity and carbohydrate degradation rate of *R. oryzae*, protease and protein degradation rate of *R. stolonifer* was higher than other strains. But lipase and lipid degradation rates of four strains were similar. The odor concentrates of the soybean cereals fermented with *Mucor* strains were similar to *Aspergillus* strains, but *Rhizopus* were possessed of the flavor components of *Bacillus* and *Aspergillus*. Soysauce, made from *M. hiemalis* and *R. stolonifer* fermented soybean cereal showed excellent sensory evaluation and it was proposed that the two strains will be useful in Korean soysauce process.

Key words: *Mucor*, *Rhizopus*, soybean, *meju*

서 론

대두 발효식품인 된장과 간장의 제조에는 장류의 원료가 되는 메주의 발효가 가장 중요한 공정으로 평가되고 있다. 그러나 전통 메주의 제조과정에는 자연에서 유래한 수십 종의 곰팡이와 세균들이 복합적으로 작용하며, 표준화가 어렵고, 제조기간도 약 2개월이 소요되는 등, 산업화가 어려운 문제점이 있다. 따라서, 대부분의 전통 장류 제조는 가내수공업 형태의 중소기업에서 이루어지고 있으며 대량생산 체제의 산업화된 생산업체에서는 콩알메주를 이용한 일본식 장류의 제조공정을 적용하고 있다. 콩알메주의 제조에는 *Aspergillus oryzae*나 *Aspergillus sojae*를 사용하는 것이 일반적이며 경우에 따라 *Bacillus*를 이용하기도 한다. 따라서 콩알메주에 관한 연구도 *Aspergillus*⁽¹⁻⁴⁾와 *Bacillus*⁽⁵⁻⁷⁾를 이용한 발효공정에서의

생화학적 변화와 이를 이용한 제품의 평가 등에 집중되었다. 그러나 이렇게 산업화된 생산 system에서 제조된 장류의 맛이나 영양학적인 성분 등은 전통장류와는 상당한 차이가 있는 것으로 평가되고 있다. 여기에는 원료, 발효기간 등의 요소가 전통장류 제조공정과 다른 이유도 있으나 메주의 발효과정에 관여하는 균주의 차이가 가장 큰 원인인 것으로 보여진다. 따라서 전통메주에서 우수한 균주를 분리하여 산업화된 콩알메주의 제조공정에 적용함으로써 대량생산 system에서 제조된 제품의 특성을 전통장류의 수준에 접근시키는 연구가 필요하다. 이러한 연구와 관련하여 인 등⁽⁸⁾은 전통메주에 서식하는 *Rhizopus*속 미생물을 분리하였고 이 등⁽⁹⁻¹¹⁾은 메주에서 수십 종의 접합균(*Zygomycetes*)과 불완전균류(*Hyphomycetes*)를 분리한 다음 각각의 균주를 동정하고 이 균주들을 이용하여 메주와 간장을 제조함으로써 분리된 균주의 산업적인 적용 가능성을 제시한 바 있다. 그러나 아직까지도 *Aspergillus*와 *Bacillus*속 미생물 이외의 전통메주 분리균주를 콩알메주의 제조공정에 적용한

Corresponding author: Seung-Ho Kim, Protein Function Research Unit, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Yuseong, Taejeon 305-600, Korea

연구는 찾아볼 수 없었다.

본 연구에서는 전통메주에서 분리한 균주 가운데 아직까지 연구결과가 발표되지 않은 *Mucor*와 *Rhizopus*속 균류 4종을 산업적인 대량 생산 system의 콩알메주 발효공정에 적용해 보기로 하고 *M. circinilloides*, *M. hiemalis*, *R. oryzae*, 그리고 *R. stolonifer*를 이용하여 메주를 제조하였다. 제조한 콩알메주의 amylase, protease, lipase의 효소활성을 측정하고 당류, 아미노산, 지방산 등의 효소분해 산물과 유기산, 향기성분 등을 분석한 결과 각 균주별로 독특한 성분을 찾아낼 수 있었으며 *M. hiemalis*와 *R. stolonifer*로 발효시킨 메주를 이용하여 우수한 풍미의 한식간장을 만들 수 있었다. 따라서 본 연구가 *Mucor*와 *Rhizopus*속 균을 이용한 콩알메주의 발효공정에 대한 표준을 제공하고 이를 이용한 한식간장 제조의 새로운 모델이 될 수 있으리라 생각되어 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

사용균주 및 시약

전통메주의 서식균주로 이 등^(9,11)이 분리한 *M. circinilloides* D-1, *M. hiemalis* E-1, *R. oryzae* T-2, 그리고 *R. stolonifer* U-1 4종을 분양 받아 실험에 사용하였다. 각 균주는 5% soytone broth (Difco)에서 배양하여 (30°C, 48 hr) 균질화한 다음 그 배양액을 메주제조에 사용하였으며 각종 시약은 GR 또는 EP 등급의 것을 사용하였다.

메주 및 간장의 제조

원료 대두는 1996년에 수확된 강원도산 백태를 사용하였다. 콩알메주는 대두를 20°C의 물에 10시간 동안 침지하여 견저낸 후 증기압 1.2 kg/cm²의 NK증자기에 20분간 증자한 다음 100×200×30 cm의 제국실에 100 kg의 증자된 대두를 넣고 균주 배양액을 대두량의 0.05% (w/w)되게 접종하여 제조하였다. 메주 제조중 발효실의 온도는 30±1°C로, 습도는 상대습도 80±5%로 조절하였으며 메주의 발효시간은 2일 제국을 기준으로 45시간까지로 하였다. 만들어진 메주는 분석을 위한 시료로 일부를 채취하고 나머지는 40°C의 건조기에서 수분이 15%정도 되도록 건조하여 간장 담금용 콩알메주로 하였다. 메주와 소금, 물의 비율이 1:1:4 (w/w)가 되도록 혼합하여 25°C의 숙성실에서 60일간 숙성시킨 후 간장과 메주를 분리하여 이를 단일균주의 메주로 제조한 생간장으로 하였다. 분리된 생간장을 100°C에서 30분간 달인 후 부

유물을 제거하고 냉각한 다음 ultrafiltration system (Sunkyoung, cut-off M.W. 100,000 kDa)에 여과하여 관능평가를 위한 실험제품으로 하였다. 제조된 시제품의 관능검사는 박 등⁽¹²⁾의 방법에 따라 10인의 panel을 대상으로 맛, 향기, 색상에 대하여 5점 평점법(1 매우 싫다, 2 싫다, 3 보통이다, 4 좋다, 5 매우 좋다)으로 실시하였으며 결과는 ANOVA 분석으로 처리한 후 Ducan's multiple range test로 유의성을 검증하였다.

일반분석

총당은 Dubois 등의 phenol-sulfuric acid 분석법⁽¹³⁾으로, 총환원당은 Somogyi법⁽¹⁴⁾으로 측정하였으며 총질소(micro-kjeldahl법), 아미노태질소(Sorensen formal titration법), 총지질(Privett법), 수분, pH 등은 일반식품 분석법⁽¹⁵⁾으로 분석하였다.

효소활성 측정

메주 10 g을 막자사발에 갈아 mass flask에 담은 후 증류수를 100 mL까지 채워 30분간 교반하고 냉장상태에서 2시간 정치한 다음 10분간 원심분리 (10,000×g, 4°C)하여 그 상등액을 조효소로 하였다. Amylase 활성은 1% soluble starch를 기질로하여 생성된 총환원당을 Somogyi법⁽¹⁴⁾으로 측정하였으며 protease 활성은 0.5% casein을 기질로하여 생성된 tyrosine을 Folin's법⁽¹⁵⁾으로, lipase 활성은 10% 대두유를 기질로하여 생성된 linoleic acid를 김 등⁽¹⁶⁾의 방법으로 측정하였다. 기질용액의 제조, 효소반응조건 등은 전보⁽⁹⁾의 방법에 준하였으며 효소의 1 unit은 1분당 1 μmole의 product를 유리시키는 효소의 양으로 하였다.

기기분석

유리당의 성분분석은 Sugar Pak Column (0.4 mm×30 cm)을 장착한 HPLC (Waters 410, U.S.A.)로, 유기산은 Cap cell pak C18 column을 장착한 HPLC (Waters 994, U.S.A.), 유리아미노산은 PICOTAG system을 이용한 HPLC (HP 1050 amino acid analyzer, U.S.A.) system에서 분석하였다. 유리지방산은 Nukol 2-4131 (15 m×0.32 mm) capillary column과 flame ionization detector를 장착한 GC/MS (HP 5890, U.S.A.)에서 분석하였고 향기성분은 Head space autosampler (Tekmar 7,000)가 연결된 GC/MS (HP 5890, U.S.A.)에서 분석하였다. 시료의 조제, 분획조건, mobile phase, detector 등은 전보⁽⁹⁾의 방법에 준하여 실시하였다.

결과 및 고찰

메주균의 생장

실험균주 4종을 접종하여 45시간 발효한 콩알메주의 외관과 향을 관찰하였다. *M. circinlloides*의 균사는 연회색으로 20 mm 이상까지 성장하였으며 구수한 향이 났다. *M. hiemalis*는 연회색으로 2~3 mm까지 균사가 성장하였고 약간 시큼한 향이 느껴졌다. *R. oryzae*의 균사는 하얀 솜같이 밀생하여 콩알이 보이지 않을 정도로 성장하였으나 특별한 향은 없었고 *R. stolonifer*는 회백색 균사가 2~3 mm 정도로 성장하였고 구수한 향이 느껴졌다. 메주의 pH는 증자대두에서 pH 6.4이던 것이 *M. circinlloides*에서는 7.16까지, 그리고 *M. hiemalis*, *R. oryzae*, *R. stolonifer*는 8.11~8.38까지 상승하였으며 메주의 수분은 증자대두의 60% 내외에서 어느정도 감소하여 이미 보고된 결과⁽⁶⁾와 비슷하게 53~55%대를 유지하였다(Table 1). 한편, 본 연구에서 제조된 콩알메주의 pH는 일반적인 재래메주⁽⁴⁾의 pH인 6.5~7.5의 범위나 *Aspergillus*를 이용한 메주⁽⁴⁾의 7.0~8.0 보다는 높았으며 청국장 제조 실험과정에서 보고된 *Bacillus*속 메주균⁽⁶⁾의 pH 8.25~8.36, 그리고 *Bacillus*속 균주를 이용한 된장용 콩알메주의 제조⁽⁹⁾에서 보고된 pH 7.98~8.68의 범위와 비슷하였다.

Amylase 활성 및 당 성분

메주의 amylase 활성은 *Mucor*와 *Rhizopus*에서 상당한 차이를 보여 *M. circinlloides*와 *M. hiemalis*에서는 0.6 unit/g 수준으로, *R. oryzae*와 *R. stolonifer*에서는 각각 8.16 unit/g, 5.87 unit/g의 활성을 나타내었으며(Table 2) 총당함량은 *R. oryzae*의 8.21%에서 *M. circinlloides*의 9.17%의 범위로 조사되었다(Table 1). 이 조사에서도 전보⁽⁶⁾의 결과와 마찬가지로 amylase 활성과 총당함량은 역의 상관관계가 있는 것으로 분

Table 1. Contents of total sugar, reducing sugar, total nitrogen, amino nitrogen, total lipid and free fatty acid of soybean cereals fermented for 45 hrs at 30°C, inoculated with *Mucor* and *Rhizopus* strains

	<i>M. circinlloides</i>	<i>M. hiemalis</i>	<i>R. oryzae</i>	<i>R. stolonifer</i>
Total sugar (%)	9.17	8.85	8.21	8.36
Reducing Sugar (%)	1.62	0.54	1.50	2.64
Total nitrogen (%)	3.49	3.53	3.68	3.53
Amino nitrogen (mg%)	93	184	290	312
Total lipid (%)	7.59	8.22	7.93	7.66
Free fatty acid (%)	2.00	1.49	1.59	0.06
Moisture content (%)	54.6	53.2	55.2	54.4
pH	7.16	8.38	8.11	8.22

Table 2. Amylase, protease and lipase activities in the filtrates of soybean cereals fermented for 45 hrs at 30°C, inoculated with *Mucor* and *Rhizopus* strains

	<i>M. circinlloides</i>	<i>M. hiemalis</i>	<i>R. oryzae</i>	<i>R. stolonifer</i>
Amylase	0.66	0.60	8.16	5.87
Protease	0.06	0.27	0.45	1.11
Lipase	0.78	0.44	0.48	0.90

석되어 amylase 활성이 높은 실험구는 당분해율과 이용율이 높아 메주의 총당함량이 상대적으로 낮아지며 amylase 활성이 낮은 실험구는 당의 이용율이 낮아 총당의 함량이 상대적으로 높아지는 경향을 보여주었다. 한편, 총환원당은 *M. hiemalis*의 0.54%에서 *R. stolonifer*의 2.64% 범위로 조사되어 *A. oryzae*를 이용한 대두 koji의 제조시 총환원당이 2% 내외로 검출된다고 보고한 Yong⁽¹⁷⁾의 결과와 비슷하였다. 각 메주 추출물의 유리당 분석 결과(Table 4), stachyose가 비교적 높은 농도로 측정되었으며 raffinose는 *M. hiemalis*와 *R. oryzae*에서, sucrose는 *R. stolonifer*에서 특이적으로 높게 검출되었다. 한편, 메주에서의 stachyose, raffinose와 같은 유리당의 대사에는 α -galactosidase와 같은 효소들이 작용할 것으로 생각되어지나 그 자세한 내용은 아직 밝혀진 바 없으며 대두의 전립과 자엽에는 sucrose (5~6%), stachyose (4~5%), raffinose (1~1.5%) 이외에도 arabinogalactan, galacturomanan, pectin, hemicellulose 등의 다당류들이 존재하는 것으로 알려져 있으므로⁽¹⁸⁾ 메주나 장류의 발효과정에서 이러한 성분들의 변화와 장류제품의 품질에 미치는 영향 등을 연구해 볼 필요가 있을 것으로 생각된다.

Protease 활성 및 질소 성분

실험메주의 단백질 분해효소 활성은 *M. circinlloides*에서는 0.06 unit/g으로 낮았으나 *R. stolonifer*에서는 1.11 unit/g의 활성을 보여 전보⁽⁶⁾의 *B. subtilis*와 비슷한 효소활성을 나타내었다. 단백질 성분의 분해정도를 나타내는 아미노태질소(AN)의 함량은 93~312 mg%의 범위로 단백질 분해효소와 유의성 있는 상관관계를 나타내었다. 이러한 결과는 *Bacillus*속 세균을 이용한 청국장 제조시의 AN이 200~500 mg%라는 보고⁽⁶⁾나 *A. oryzae* 3종을 이용한 대두 koji 제조시의 AN이 300 mg% 수준이라는 보고⁽¹⁷⁾에 비하여 약간 낮은 수준이었다. 메주추출물의 아미노산 조성에 대한 분석결과는 Table 3과 같다. 각 균주별 아미노산 조성을 살펴 보았을 때 전체적으로 asparagine의 함량이 가

장 높았으며 특히 *M. circinilloides* 실험구에서는 전체 아미노산의 76% 정도가 asparagine으로 검출되었다.

이 외에도 *R. stolonifer*에서는 valine이, *M. hiemalis*에서는 arginine의 함량이 상대적으로 높게 검출되었으나 다른 아미노산의 함량은 이미 보고된 메주 성분중의 아미노산 조성에 대한 연구결과⁽⁶⁾와 비슷하였다.

Table 3. Composition of amino acids in the filtrates of soybean cereals fermented for 45 hrs at 30°C, inoculated with *Mucor* and *Rhizopus* strains

(Unit: relative peak area %)

	<i>M. circinilloides</i>	<i>M. hiemalis</i>	<i>R. oryzae</i>	<i>R. stolonifer</i>
Asp	1.72	6.74	4.22	3.07
Glu	3.06	5.88	9.47	8.71
Asn	75.86	35.65	36.53	27.19
Ser	0.34	1.21	1.08	2.27
His	1.74	3.88	3.70	5.64
Gly	1.32	2.71	2.50	2.55
Thr	0.35	1.76	0.99	1.30
Ala	1.35	2.67	1.78	3.30
Arg	1.42	8.12	2.90	3.65
Tyr	1.37	3.94	3.38	3.47
Cys	0.38	0.50	1.00	0.38
Val	1.35	3.67	4.45	11.33
Met	0.33	1.24	1.02	0.98
Phe	0.62	2.18	1.45	4.67
Ileu	3.53	9.15	10.10	5.76
Leu	2.56	5.11	7.79	6.35
Lys	1.30	2.72	4.31	6.11
Pro	1.40	2.87	3.33	3.27
Total	100.00	100.00	100.00	100.00

Lipase 활성 및 지질 성분

*Mucor*와 *Rhizopus* 균류를 접종한 메주의 lipase 활성은 0.44~0.90 unit/g으로 조사되어(Table 2) *Bacillus* 속 세균류의 0.1 unit/g⁽⁶⁾에 비하여 lipase 활성이 높았다. 메주의 총지질량은 증자대두에서 8.4% 수준이던 것이 메주 발효후에는 7.59~8.22%로 감소하여(Table 1) 총지질의 2~9% 정도가 균주의 대사과정에 이용되었음을 알 수 있었으며 지질의 이용율은 lipase활성과 유의적인 상관관계가 있었다. 메주의 유리지방산은 1~2% 정도로 축적되어(Table 1) *Bacillus*속 세균류를 이용한 메주⁽⁶⁾의 1% 내외와 비슷한 결과를 보여주었으나 *R. stolonifer*에서는 유리지방산이 거의 검출되지 않아 대부분의 유리지방산이 발효과정에서 소비됨을 알 수 있었다. 메주 지방산의 성분별 분석결과(Table 4), 메주 지방산의 조성은 다른 실험구에서는 지금까지 보고된 대두, 청국장, 메주 등의 지방산조성^(6,20-23)과 비슷한 양상이었으나 *M. circinilloides*에서는 이와는 전혀 다른 지방산 조성을 보여주었다. 즉, 다른 실험구에서는 50% 내외의 함량을 보인 C18:2 (linoleic acid)가 12.45%로 감소하고, 상대적으로 다른 실험구에서는

Table 4. Compositions of free sugars, free fatty acids and organic acids in the filtrates of soybean cereals fermented for 45 hrs at 30°C, inoculated with *Mucor* and *Rhizopus* strains

		<i>M. circinilloides</i>	<i>M. hiemalis</i>	<i>R. oryzae</i>	<i>R. stolonifer</i>
Sugars (%)	Stachyose	1.60	4.52	3.49	5.22
	Raffinose	0.00	2.50	4.15	0.00
	Sucrose	0.08	0.26	0.00	1.89
	Glucose	0.05	0.42	0.00	0.00
	Fructose	0.15	0.32	0.03	0.14
Fatty acids (peak area %)	C16:0	37.67	18.66	16.13	21.04
	C18:1	11.63	28.52	29.57	21.93
	C18:2	12.45	46.84	47.94	51.60
	C18:3	0.95	5.95	6.33	5.43
	C18:4	20.00	0.00	0.00	0.00
	C20:0	4.12	0.02	0.02	0.00
	C20:1	13.21	0.00	0.00	0.00
Organic acids (mg %)	Tartaric acid	0.11	2.17	0.18	0.82
	Malic acid	0.13	0.47	0.47	1.61
	Acetic acid	0.18	0.82	0.54	0.46
	Lactic acid	0.26	0.65	0.36	1.02
	Citric acid	0.04	0.11	0.12	0.76
	Succinic acid	0.03	0.85	0.23	0.34

거의 검출되지 않은 C18:4 (stearidonic acid), C20:0 (arachidic acid), C20:1 (eicosenoic acid)가 각각 20.0%, 4.2%, 13.2%로 조사되었다. 이처럼 자연상태에서는 잘 나타나지 않은 지방산으로 알려진 C18:4, C20:0, C20:1 등이 다량으로 검출된 것은 대두의 주요 지방산인 linoleic acid나 linolenic acid가 *M. circinlloides*의 지질 분해나 지방산의 생합성에 의하여 변환된 것으로 보여 지나 그 과정에 대하여는 아직까지 밝혀진 바가 없어 추후 흥미있는 연구과제가 될 것으로 보여진다.

유기산

메주의 6가지 유기산 성분을 분석하여 그 결과를 Table 4에 정리하였다. 유기산의 총합량은 0.75~5.07%의 범위를 보여 *Bacillus*를 이용한 콩알메주의 유기산 함량과⁽⁹⁾ 비슷한 수준이었다 한편, 각 균주에 따라 *M.*

*hiemalis*에서는 tartaric acid가, *R. stolonifer*에서는 malic acid와 citric acid의 함량이 특이적으로 높게 조사되었다.

향기성분

각 메주로부터 40여종의 향기성분을 검출하고 그 주요 성분을 *Bacillus*⁽⁹⁾ 및 *Aspergillus*⁽²⁰⁾를 이용한 콩알 메주의 향기성분과 비교하여 Table 5에 정리하였다. *Mucor*속 균주에서는 *Bacillus*에만 특이적으로 나타나는 향기성분은 검출되지 않았으며 대부분 *Aspergillus*속의 균주에 유사한 성분이 조사되었다. 이에 비하여 *Rhizopus*속 균주에서는 *Bacillus*의 특징적인 향기성분으로 알려진 benzaldehyde와 pyrazine류 화합물과 함께 *Aspergillus*에서만 특징적으로 검출된 dl-limonene, 2,3-butanediol 등도 검출되어 *Aspergillus*와 *Bacillus*의

Table 5. Comparison of major volatile compounds of soybean cereals fermented for 45 hrs inoculated with *Bacillus*, *Aspergillus*, *Mucor* and *Rhizopus* strains
(Unit: Relative peak area %)

Compounds/strains ^a	Bn	Bs	Ao	As	Mc	Mh	Ro	Rs
2-octanamine, N-(1-methylheptyl)	0.12	-	-	-	-	-	-	-
acetic acid, ethenyl ester	1.15	-	-	-	-	-	-	-
heptanal	0.14	0.81	-	-	-	-	-	-
oxazole, trimethyl	1.40	-	-	-	-	-	-	-
formic acid, hexyl ester	-	1.47	-	-	-	-	-	-
1-hexanol	0.25	-	-	-	-	-	-	-
disulfide, dimethyl	1.28	1.23	-	-	-	-	-	-
2-butanone, 3-hydroxy-3-methyl	-	-	-	-	-	-	-	0.79
propane, 1-methoxy-2-methyl	0.86	2.05	-	-	-	-	-	-
pyrazine, 2-5-dimethyl	0.54	1.51	-	-	-	-	0.25	0.74
pyrazine, tetramethyl	4.32	3.93	-	-	-	-	-	2.25
benzaldehyde	0.21	1.72	-	-	-	-	-	0.73
pyrazine, trimethyl	2.54	3.31	-	-	-	-	0.09	2.00
ethanedioic acid, bis (trimethylsilyl)	-	-	-	-	-	-	-	-
2-butanone	-	3.53	0.18	1.63	-	-	2.46	7.75
butanal, 3-methyl	-	36.36	0.38	3.55	-	0.32	-	8.74
2-propanol	0.96	-	-	1.23	-	0.19	0.23	-
1-propanol	14.90	-	9.85	2.08	1.29	0.19	0.31	1.21
ethanol	27.15	1.61	80.87	39.46	95.93	93.27	86.21	32.66
1-butanol, 3-methyl	1.80	0.59	1.27	0.86	0.26	0.19	1.33	1.97
acetic acid	3.98	12.31	3.63	18.53	0.32	0.72	1.25	3.10
acetic acid, ethyl ester	-	-	-	-	0.45	0.57	0.14	-
acridine, 9-methyl	-	-	-	3.81	-	-	-	-
dl-limonene	-	-	0.07	0.75	-	-	-	0.74
2-butanone, 3-hydroxy	-	-	0.38	-	0.23	-	-	1.30
2,3-butanediol	-	-	0.68	1.44	0.02	0.18	0.16	-

^aStrains, Bn: *B. natto* MJ-3, Bs: *B. subtilis* MJ-4, Ao: *A. oryzae* CF-1001, As: *A. sojae* CF-3001, Mc: *M. circinlloides*, Mh: *M. hiemalis*, Ro: *R. oryzae*, Rs: *R. stolonifer*.

The results of *Bacillus* and *Aspergillus* were referred to previous study by author^(5,14).

The *Mucor* and *Rhizopus* were collected for the studies of Korean traditional *meju* in Korea National University of Education^(9,11).

특성을 공유하는 것으로 조사되었다. 한편, 각 실험구 간은 다른 실험구와 구분되는 특성들을 보여주었으며 이를 요약하면 아래와 같다(data not shown). *M. circinlloides*에서는 총 22종의 향기성분이 검출되었으나 ethanol이 95.9%의 함량을 보였고 1-propanol (1.29%)이 약간의 peak를 보였을 뿐 대부분의 성분이 1% 이하의 미량으로 검출되었으며 이 중 pentane (0.23%), diformate butanediol (0.22%), benzenmethanol (0.02%), butyl ester formic acid (0.01%) 등이 특이성분으로 조사되었다. *M. hiemalis*에서도 총 16종의 향기성분이 검출되었으나 ethanol이 93.3%의 함량을 보였고 2-propanone (1.19%)이 약간의 peak를 보였을 뿐 대부분의 성분이 1% 이하의 미량으로 검출되었으며 이 가운데 cyclopentanol (0.07%), 1,3-dioxolane (0.03%) 등이 미량의 특이성분으로 조사되었다. *R. oryzae*에서는 총 15종의 향기성분이 검출되었으며 ethanol이 86.2%의 함량을 보였고 2-butanone (2.46%), 1-propanol (3.0%), 3-methyl-1-butanol (1.33), acetic acid (1.25%) 등이 주요 성분으로 검출되었다. 특히 *Bacillus*속의 향기성분으로 알려진 pyrazine류 화합물이 2종 검출되었는데 *Bacillus* 속 미생물에서는 나타나지 않은 2,6-dimethyl-pyrazine (0.25%)이 검출되었다. *R. stolonifer*에서는 총 28종의 향기성분이 검출되어 가장 다양한 향기성분 구성을 보여주었으며 이 중, ethanol (32.7%), 1-propanol (1.21%), 1-heptanol (0.85%), 3-methyl-1-butanol (1.97%), 1-pentanol (0.29%), 1-butanol (0.18%), 2-pentanol (0.45%) 등의 alcohol류의 다양성과 함량이 특이적으로 높게 조사되었다. *Bacillus*속의 향기성분으로 알려진 pyrazine류 화합물 3종과 2,6-dimethyl-pyrazine (0.25%)이 검출되었다.

실험제조 간장의 특성

콩알메주를 건조하여 식염과 물을 혼합한 후 25°C에서 60일간 숙성한 생간장을 여과하여 한식간장으로서의 관능평가를 실시하였다(Table 6). 관능평가 결과 *M. circinlloides*와 *R. oryzae* 실험구에서는 고약한 맛과 향이 느껴져 거부감을 나타내었으나 *M. hiemalis*와 *R. stolonifer*에서는 맛과 향에서 비교적 높은 선호도를 보여주었다. 특히 *M. hiemalis* 실험구에서는 약간의 단맛과 지미가 잘 조화된다는 평가를 받았으며 *R. stolonifer*에서는 약간의 알콜향에 대하여 좋은 반응을 보였다. 따라서 개량메주를 이용한 한식간장의 제조에는 *M. hiemalis*와 *R. stolonifer*를 사용하는 것이 효과적일 것으로 평가되었으며, 다른 한편으로는 전보⁵⁾에서 보고된 바와 같이 *Bacillus*나 *Aspergillus*로 제조

Table 6. Sensory evaluation of the soysauces made from whole soybean cereals fermented with *Mucor* and *Rhizopus* strains

Sample	<i>M. circinlloides</i>	<i>M. hiemalis</i>	<i>R. oryzae</i>	<i>R. stolonifer</i>
Taste	1.4 ^b	3.7 ^a	1.1 ^b	3.8 ^a
Flavor	1.8 ^b	4.1 ^a	1.3 ^b	3.9 ^a
Color	3.2	3.1	3.2	2.9

^aValues in the same column with different superscript letters are significantly different from others at $p < 0.05$ level.

한 메주를 혼합하여 사용하는것도 전통간장의 맛을 내는데 유용할 것으로 기대되었다.

요 약

콩알메주 발효의 pilot system에 *M. circinlloides*, *M. hiemalis*, *R. oryzae*, *R. stolonifer*를 각각 접종하여 45시간 발효시킨 후 메주의 효소활성, 영양성분, 향기성분 등을 분석하고 발효된 메주로 한식간장을 제조하여 제품의 관능을 평가하였다. 메주의 pH는 7.16~8.38, 환원당은 0.54~2.64%, 아미노노질소는 93~312 mg%, 유리지방산은 0.06~2.00%의 수준이었으며 아미노산, 유리당, 지방산, 유기산의 분석 결과, 각 균주에 따라 특징적인 구성비를 보여주었다. Amylase 활성과 당류의 분해도는 *R. oryzae*가, protease 활성은 *R. stolonifer*가 가장 높았으며 lipase 활성과 지질의 분해도는 각 균주별로 큰 차이를 보이지 않았다. 메주의 향기성분 분석 결과 *Mucor*속 균주들은 *Aspergillus*와 비슷한 향기성분을 생산하는 것으로 조사되었고 *Rhizopus*속 균주들은 *Bacillus*의 특징적인 향기성분으로 알려진 benzaldehyde, pyrazine류 화합물과 함께 *Aspergillus*에서만 특징적으로 검출된 dl limonene, 2,3-butanediol 등도 검출되어 *Aspergillus*와 *Bacillus*의 특성을 공유하는 것으로 조사되었다. 각 균주로 간장을 제조한 결과, *M. hiemalis*와 *R. stolonifer* 실험구가 좋은 관능평가를 보여 이 두 균주를 이용한 콩알메주로 한식간장을 제조할 수 있는 가능성을 제시하였다.

문 헌

1. Kang, H.J., Park, E.S. and Yoon, S.: Interaction of phytic acid with minerals during meju preparation (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **16**, 403-407 (1984).
2. Kim, S.S.: Effect of meju shapes and strains on the quality of soysauce (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **10**, 63-72 (1978).

3. Park, C.K., Nam, J.H., Song, H.I. and Park, H.Y.: Studies on the shelf-life of the grain shape improved meju (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **21**, 876-883 (1989).
4. Lee, C.J. and Koh, H.S.: Standardization of Korean soysauce (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **8**, 247-252 (1976).
5. Kim, D.H., Lim, D.W., Bai, S. and Chun, S.B.: Fermentation characteristics of whole soybean meju model system inoculated with 4 *Bacillus* strains (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**, 1006-1015 (1997).
6. Suh, J.S., Lee, S.G. and Ryu, M.K.: Effect of *Bacillus* strains on the Chungkook-jang processing (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **14**, 309-314 (1982).
7. Ju, H.K., Ro, S.K. and Im, M.H.: Studies on the fermentation of soysauce by bacteria (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **4**, 276-284 (1972).
8. Yihn, H.J. and Lee, B.H.: Taxonomical studies of *Rhizopus* spp. in Korea-*Rhizopus* spp. isolated from meju (in Korean). *Kor. Jour. Microbiol.*, **6**, 100-105 (1968).
9. Lee, S.S., Park, K.H., Choi, K.J. and Won, S.A.: Identification and isolation of *Zygomycetous* fungi found on *Maejus*, a raw material of Korean traditional soysauces (in Korean). *The Korean Journal of Mycology*, **21**, 172-187 (1993).
10. Lee, S.S., Park, K.H., Choi, K.J. and Won, S.A.: A study on *Hyphomycetes* fungi found on *Maejus*, a raw material of Korean traditional soysauces (in Korean). *The Korean Journal of Mycology*, **21**, 247-272 (1993).
11. Lee, S.S.: Meju fermentation for a raw material of Korean traditional soy products. *The Korean Journal of Mycology*, **23**, 161-175 (1995).
12. Park, C.K. and Hwang, I.K.: Consumption pattern of Korean traditional soy sauce and consumer sensory evaluation (in Korean). *Korean J. Soc. Food Sci.*, **11**, 521-526 (1995).
13. Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rbers, P.A. and Smith, F.: Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, **28**, 350-356 (1956).
14. Nelson, N: A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.*, **153**, 375-379 (1944).
15. Ryu, T.J., Lee, J.S., Kim, H.S. and Kwon, H.I.: Laboratory manual of Food. Soohaksa Co., Seoul, (1979).
16. Kim, C.J., Cheigh, H.S. and Byun, S.M.: A simple and modified photometric method for measuring lipase activity. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **16**, 251-253 (1984).
17. Yong, F.M., and Wood, B.J.B.: Biochemical changes in experimental soy sauce Koji. *J. Food. Technol.*, **12**, 163-175 (1977).
18. Chung, D.H. and Shim, S.K.: Soybean fermentation food. Ponds of intelligence Co., Seoul, (1994).
19. Lee, C.H.: The effect of Korean soy sauce and soypaste making on soybean protein quality (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **8**, 12-17 (1976).
20. Kim, B.N., Park, C.H., Ham, S.S. and Lee, S.Y.: Flavour component, fatty acid and organic acid of natto with spice added (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **24**, 219-227 (1995).
21. Kim, J.G., Kim, S.K. and Lee, J.S.: Fatty acid composition and electrophoretic patterns of protein of Korean soybean (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **20**, 263-271 (1988).
22. Yoon, T.H., Im, K.J. and Kim, D.H.: Fatty acid and composition of lipids obtained from Korean soybean varieties (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **16**, 375-382 (1984).
23. Rhee, S.H., Cheigh, H.S. and Kim, C.S.: Studies on the changes of lipids during soybean koji preparation for Doenjang fermentation in model system (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **14**, 375-381 (1982).
24. Kim, D.H.: Studies on the model systems of Korean traditional soysauce using the soybean cereals fermented. *Ph. D. Thesis*, Chonnam National Univ., Korea (1998).

(1998년 9월 1일 접수)